Proyecto Semilla SC16-1-S-24

Reporte de resultados

Resumen

Este proyecto semilla inició en junio del 2014. Han estado involucrados estudiantes de posgrado, de los cuales uno se graduó en 2015. Los otros estudiantes son de doctorado, por lo que su graduación y la publicación de artículos toma más tiempo. Los recursos otorgados por Miztli han sido de gran utilidad para realizar las simulaciones y cálculos que usamos en nuestros proyectos experimentales en el área de enzimología. Finalmente a principios de este año (2017) tenemos en uno de los proyectos resultados completos y alentadores que nos permitirán concretar al menos dos publicaciones.

Durante 2016 se lograron los siguientes resultados:

a) avances en los proyectos de tesis doctorales que se describen adelante.
b) Un artículo enviado con agradecimientos a Miztli
c) Un artículo en preparación
d) Agradecimientos en 2 congresos internacionales

Descripción de avances

A continuación se describen brevemente estos resultados.

a) Los proyectos doctorales que consumen recursos de la supercomputadora son:

1. Factores moleculares que determinan la capacidad oxidante de una peroxigenasa fúngica. M.C. Joaquín Ramírez Ramírez. Posgrado en Ciencias Bioquímicas, Instituto de Biotecnología, UNAM. Enero 2015 a la fecha

Durante el 2015 se arrancó el proyecto; este proyecto consiste en analizar la cavidad del sitio activo de una hemo-peroxigenasa de *Agrocybe aegerita* así como el túnel que permite el acceso del sustrato. La hipótesis es que es este último factor el que más influye en la capacidad catalítica, única, de esta enzima.

Se realizó una dinámica de 100 ns y se analizó la trayectoria en términos de los movimientos en la primera esfera de coordinación del grupo hemo y aquellos observados en el túnel de acceso del sustrato. Además, se modeló el estado basal de la peroxigenasa por QM-MM. En este momento nos encontramos en proceso de realizar cálculos de QM-MM de la enzima en su estado activado.

Se han obtenido 3 mutantes por mutagénesis sitio dirigida, con el objetivo de ampliar el acceso del sustrato al sitio activo basándonos en información previamente reportada en la literatura y también en lo observado en las simulaciones de dinámica molecular. La caracterización de estas mutantes

indica que efectivamente son más eficientes en la oxidación de PAH. Estos resultados permitirán preparar una publicación adicional.

2. Estudio de la transferencia electrónica en una lacasa fúngica: implicaciones en la actividad y estabilidad. M.C. Mayra Guadalupe Avelar Frausto. Posgrado en Ciencias Bioquímicas, Instituto de Biotecnología, UNAM. Enero 2013 a la fecha.

En este proyecto se realizaron varios cálculos de dinámica molecular y QM-MM. Con base en estos cálculos se han seleccionado residuos candidatos a mutaciones sitio dirigidas; el objetivo del proyecto es predecir (a partir de cálculos QM-MM) sitios susceptibles a oxidarse. Por tanto, las mutaciones sitio dirigidas tienen como objetivo reemplazar estos residuos por otros menos oxidables. Se tienen 3 mutantes que se han caracterizado experimentalmente, y dos de ellas muestran una actividad mayor a la enzima parental con un sustrato estándar. En términos de estabilidad ante la oxidación, al menos una de las mutantes es más estable. Estos avances se presentaron en dos congresos internacionales durante el 2016, con agradecimientos al proyecto semilla. Además, tenemos dos artículos (uno enviado, otro en preparación) con agradecimeintos al proyecto.

Cálculos realizados: dinámicas moleculares de dos proteínas; cálculos para determinar la densidad de espín de especies enzimáticas en su estado basal y activadas (más/menos un electrón)

Software utilizado: Qsite y Desmond, de Schrodinger

Recursos utilizados:77000 h-cpu

Lista de colaboradores: Dra. Nina Pastor Colón, Uaem

Artículos publicados:ninguno
Enviado
Recombinant expression of a laccase from *Coriolopsis gallica* in *Pichia pastoris* using a modified α-factor preproleader. Mayra Avelar, Clarita Olvera, Denise L. Aceves-Zamudio, Jorge Luis Folch, Marcela Ayala*. Protein Expression & Purification (Elsevier).

En preparación
Stabilization of a fungal laccase following a QM-MM-based prediction of oxidation susceptibility of active-site residues. Mayra Avelar, Nina Pastor, Marcela Ayala*.

Alumnos graduados: ninguno
Por terminar (este año de 2017)
MC Mayra Avelar Frausto

En proceso
MC Joaquín Ramírez Ramírez

Congresos internacionales

1. “Molecular factors modulating the stability of metal-containing enzymes: a theoretical and experimental approach”. Presentó: Mayra Avelar. Co-autores: Joaquín Ramírez, Marcela Ayala. V Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry (V LABIC). Octubre 2016. Querétaro, Qro. México.
2. “Studying the operational stability of a fungal laccase through spin density distribution”. Presentó: Mayra Avelar. Co-autores: Nina Pastor, Marcela Ayala. 8th European Meeting on Oxizymes. Julio 2016. Wageningen, HOLANDA.